

## 산호 유래 실리콘 함유 다공성 수산화아파타이트의 합성 및 특성 분석

김수룡 · 이윤주 · 송 희 · 이종현\* · 이강식\* · 김해중\*\* · 김영희†

요업기술원 세라믹·건재본부

\*서울아산병원 정형외과

\*\*㈜ 메타바이오메드

(2004년 6월 25일 접수; 2004년 8월 6일 승인)

### Preparation and Characterization of Porous Hydroxyapatite Containing Silicon Derived from Natural Coral

Soo Ryong Kim, Yoon Joo Lee, Hee Song, Jong Heon Lee,\* Kang Sik Lee,\*  
Hae Joong Kim,\*\* and Young Hee Kim†

Ceramics and Building Materials Division, KICET, Seoul 153-801, Korea

\*Asan Medical Center, Department of Orthopedic Surgery, Seoul 138-736, Korea

\*\*Meta Biomed Co. Ltd., Choongbuk 363-880, Korea

(Received June 25, 2004; Accepted August 6, 2004)

#### 초 록

생체친화성 인공골 개발을 위하여 해면골과 매우 유사한 기공구조를 갖는 천연 산호(CaCO<sub>3</sub>, aragonite phase)를 수열처리하여 수산화아파타이트 다공체를 제조하였다. 생체 친화성을 증진시키기 위하여 산호를 수열 처리하는 과정에서 실리콘을 치환시키는 실험을 하였다. 수열합성과 solvothermal 방법을 반복적으로 사용하여 실리콘이 치환된 수산화아파타이트를 합성하였으며 이들의 각 온도에 따른 상변화 및 실리콘 농도를 XRD, ICP, EDS 등을 통하여 분석하였다. 분석결과로부터 실리콘이 수산화아파타이트 골격 내에 균일하게 분산되어 있음을 확인하였다.

#### ABSTRACT

A porous hydroxyapatite has been prepared using natural coral which resembles human cancellous bone in microstructure. To obtain a biomaterial having a good biocompatibility, substitution of silicon into the hydroxyapatite framework has been attempted. Si substituted hydroxyapatite has been prepared by hydrothermal treatment and solvothermal treatment of the natural coral repeatedly. Si concentration and phase of the Si substituted hydroxyapatite derived from coral have been characterized using a XRD, ICP, and EDS etc. EDS investigation confirmed the presence of silicon in the framework of hydroxyapatite structure.

**Key words :** Hydroxyapatite, Silicon, Substitution, Bone, Natural coral

#### 1. 서 론

수산화아파타이트 [Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>, HA]는 우수한 생체 활성을 나타내며 골전도성이 우수하여 다공체 형태, 과립 형태 또는 타이타늄과 같은 금속 표면에 생체 친화성을 높이기 위한 코팅제 등의 바이오 세라믹으로 많이 사용되고 있다. 특히 실리콘이 치환된 수산화아파타이트는 생체 친화성이 우수하여 많은 관심의 대상이 되고 있다.<sup>1-8)</sup>

Hench에 의하면 실리콘 이온은 골아세포인 osteoblast의 성장을 촉진시키는 성장인자로 보고하여 생체재료에 함

유되어 있는 실리콘의 중요성을 강조하였다.<sup>1)</sup> 실제로 우리 몸을 구성하는 뼈는 소량의 실리콘을 함유하는데 분석결과 새로 형성된 뼈의 성분은 다른 부분보다 높은 0.5% 정도의 실리콘을 함유하고 있어 Hench의 이론을 뒷받침해 주고 있다. 이와 같은 사실은 Carlisle 등에 의하여 electron microprobe 연구 결과에 의하여 확인되었다.<sup>9)</sup>

골대체제로 사용되기 위해서는 체액의 원활한 흐름을 도울 수 있도록 재료는 3차원적으로 서로 연결된 기공구조를 갖도록 설계되어야 한다. 천연의 산호 중 porities(중공)는 해면골의 구조와 매우 유사한 기공구조를 가지고 화학적 성분이 CaCO<sub>3</sub>로 이루어져 있어 오래 전부터 산호 자체로도 골대체제로 사용되어 왔다. 또한 1995년 Interpore사의 산호 유래 천연 수산화아파타이트 다공성 골대체제(Pro Osteon)가 시판되고 일반적인 시술방식으로 이용되

†Corresponding author : Young Hee Kim

E-mail : yhkocim@kicet.re.kr

Tel : +82-2-3282-2472 Fax : +82-2-3282-2430

면서 합성 수산화아파타이트를 이용한 다공성 이식체 연구분야에 관심과 연구개발이 가속되고 있다.<sup>10-12)</sup>

본 연구에서는 뼈와 매우 유사한 기공구조를 갖는 천연 산호(CaCO<sub>3</sub>, aragonite phase)를 출발물질로 하여 수열 합성과 solvothermal 방법을 반복적으로 사용하여 생체 친화성이 증진된 실리콘이 치환된 수산화아파타이트 다공체 제조를 수행하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 산호를 이용한 수산화아파타이트 다공체 제조

산호를 이용하여 수산화아파타이트를 합성하는 경우 일정량의 산호(Porities 중, 인도네시아산)를 얇게 절단한 후 4 wt% sodium hypochlorite에 담가서 유기물질을 제거한 후 증류수로 깨끗이 세척하여 건조시켰다. 건조된 산호 블록을 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 용액에 침적시킨 다음 Teflon lining된 stainless steel로 만든 hydrothermal bomb에 옮겨 넣은 다음 130–200°C 오븐에 넣어 24시간동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 시료는 초음파 세척기에서 아세톤, 증류수로 세척하고 건조시켰다.

### 2.2. 산호를 이용한 실리콘 치환 수산화아파타이트 다공체 제조

산호를 이용하여 실리콘이 첨가된 수산화아파타이트를 합성하는 경우 첫번째로는 실리콘 원료를 산호와 함께 넣어 수열처리 방법으로 실험하였다. 두번째로는 산호만을 1차 수열처리 후 실리콘 원료를 함께 넣어 solvothermal처리하고, 다시 수열 처리하는 과정을 통하여 실리콘 치환을 시도하였다. 두번째 방법에서는 실리콘 아세테이트를 유기용매인 아세톤에 포화시킨 용액을 이용하여 solvothermal 처리하였으며 구체적인 실험 방법은 아래와 같다.

1. 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>에 180°C에서 7시간 수열 처리를 한다.
2. 아세톤에 silicon acetate 포화용액을 제조한다.
3. Hydrothermal bomb에 1의 시료와 2의 용액을 넣고 밀봉 한 후 180°C에서 24시간 반응시킨다.
4. 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>에서 180°C, 24시간 다시 한번 수열 처리 한다.
5. 초음파 세척기에서 아세톤, 증류수로 세척하고 건조시킨다.

### 2.3. 분석방법

수열처리 및 solvothermal 처리하여 얻은 시편에 대하여 다음 분석장치를 이용하여 실시하였다. XRD 데이터는 Cu K $\alpha$  radiation을 사용해서 Rigaku D/Max-RINT 2500 diffractometer를 사용하여 얻었다. 아울러 열처리 후 미세 구조 및 실리콘 농도를 EDS가 부착된 FE-SEM(JEOL JSM-6700F)을 사용하여 관찰하였다.

### 2.4. 토끼를 이용한 In vivo 실험

산호를 출발물질로 한 수산화아파타이트와 실리콘이 첨가된 수산화아파타이트 시편을 토끼의 대퇴골에 이식하여 생체 친화성 여부를 확인하였다. 실험에 사용한 토끼는 New Zealand White Rabbit으로 2.5 kg 이상의 3~4개월령 수컷이며 다공체 시편은 5 mm 직경, 8 mm 길이의 원통형으로 하였다. 토끼의 대퇴골에 시편을 이식하고 3주 및 6주 경과한 후 토끼를 희생하여 이식된 부위를 육안 관찰하였다. 토끼를 이용한 동물실험은 서울아산병원 정형외과에서 수행하였고 결과에 대한 고찰을 해주었다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 산호를 이용한 수산화아파타이트 다공체 제조

수산화아파타이트를 골대체제로 사용하기 위하여는 300–500  $\mu$ m의 기공이 3차원적으로 연결된 다공체의 형태로 제조되어야 한다. 실제로 몸 속에 implant하였을 때 이러한 기공들 사이로 체액이 자유로이 통과하여 새로운 뼈의 생성을 돕는다. 다공체를 제조하기 위하여 폴리우레탄 폼에 슬러리를 함침하여 소결하는 방법,<sup>14)</sup> Co-extrusion을 이용하는 방법<sup>15)</sup> 또는 천연의 다공체를 이용하는 방법<sup>10)</sup> 등이 알려져 있다.

하지만 이러한 방법을 사용하여 만든 다공체의 경우 강도가 약하여 척추 등의 강도를 요구하는 부위의 골대체재로 사용에는 제약이 있다. 문헌에 보고된 바에 의하면 자연의 산호로부터 제조한 수산화아파타이트 다공체의 강도가 5 MPa 정도로 가장 강한 것으로 알려져 있다.<sup>13)</sup> 본 실험에서는 사람의 해면골(cancellous bone)과 매우 유사한 기공배열을 갖는 천연 산호를 수열처리하여 수산화아파타이트 다공체를 제조하였다. Fig. 1에 사람의 해면골과 천연 산호의 SEM 사진을 나타내었다.

산호의 주성분은 CaCO<sub>3</sub>이며 XRD 분석결과 실험에 사용된 산호는 aragonite phase를 갖고 있었다(Fig. 2). 산호를 이용하여 수산화아파타이트를 합성하는 경우 아래와

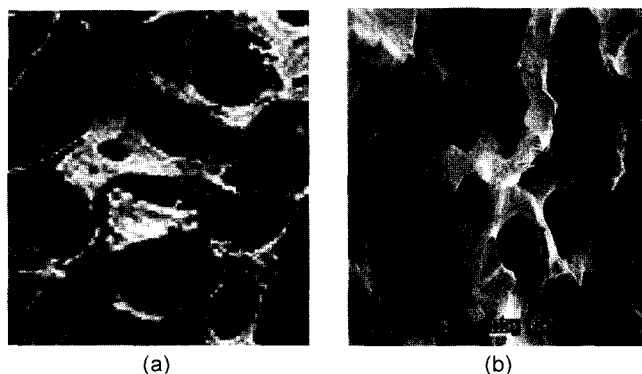


Fig. 1. SEM micrographs of human cancellous bone (a) and natural coral (b).

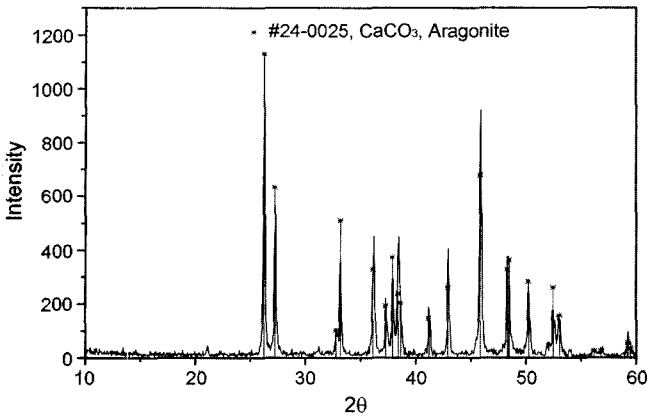
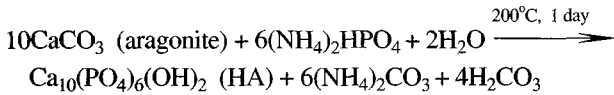


Fig. 2. XRD powder diffraction patterns of natural coral.

같이 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>를 phosphorus source로 사용하여 수열처리 하여 수산화아파타이트를 제조할 수 있다.<sup>10)</sup>



(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>의 농도와 양, 반응온도를 변화시키면서 생성된 수산화아파타이트의 XRD 변화를 확인해 보았다. (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>의 농도는 1 M과 2 M의 차이가 현저하게 나타난 것은 아니지만 1 M 용액을 사용하는 경우에는 200°C, 24시간 반응후에 CaCO<sub>3</sub>, TCP가 소량 존재하였다. 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>를 사용하여 반응시킨 경우 완전히 수산화아파타이트로 전환됨을 알 수 있었다.

2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>를 사용하여 반응시키는 경우 온도의 영향을 130°C, 180°C, 200°C에서 살펴 보았는데, 130°C에서는 수산화아파타이트로 전환이 아주 소량만 진행되었지만 200°C에서는 24시간에 완전히 수산화아파타이트로 전환된 것을 XRD로 확인하였다(Fig. 3).

3.2. 산호를 이용한 실리콘 친환 수산화아파타이트 다공체 제조

생체 친화성을 증진시키기 위하여 산호를 수열 처리하는 도중 실리콘을 치환시키는 실험을 하였다. Fig. 4에는 천연산호를 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>로 200°C에서 24시간 수열반응 시킨 시편의 XRD 결과를 나타냈다. 수열반응 과정중 수산화아파타이트 내부에 실리콘을 첨가시키기 위하여 (a) 0.5 g의 silicon acetate와 (b) 0.5 g의 tetraethylorthosilicate를 2 M 30 ml (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>에 각각 녹여서 반응시켰다. 반응 후 시료를 채취하여 FE-SEM을 통해 EDS 분석한 결과 실리콘이 전혀 검출되지 않았다. Fig. 4의 XRD 결과에서는 순수한 수산화아파타이트 피크와 (a), (b) 모두 같은 위치에서 2개의 미확인 피크가 관찰되었다. 이 같은 이유는 수열반응 조건하에서 실리콘이 이온 상태로 존재하

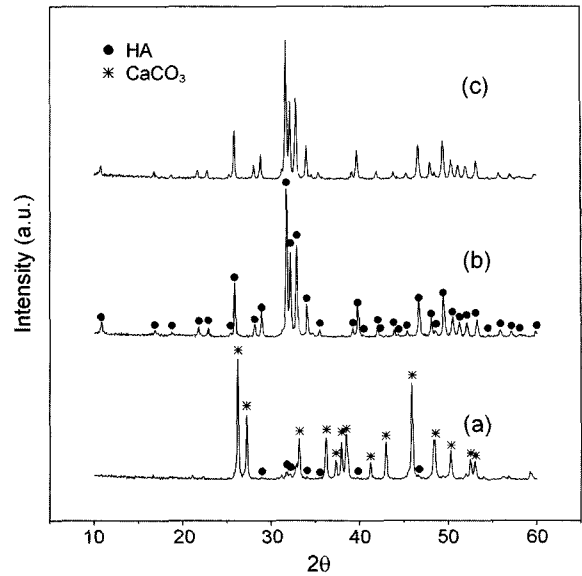


Fig. 3. XRD powder diffraction patterns of the samples after hydrothermal treatment at (a) 130°C, 24 h, (b) 180°C, 24 h, and (c) 200°C, 24 h.

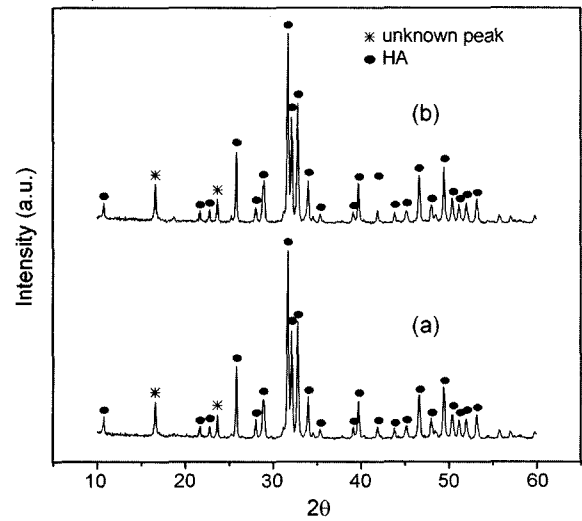
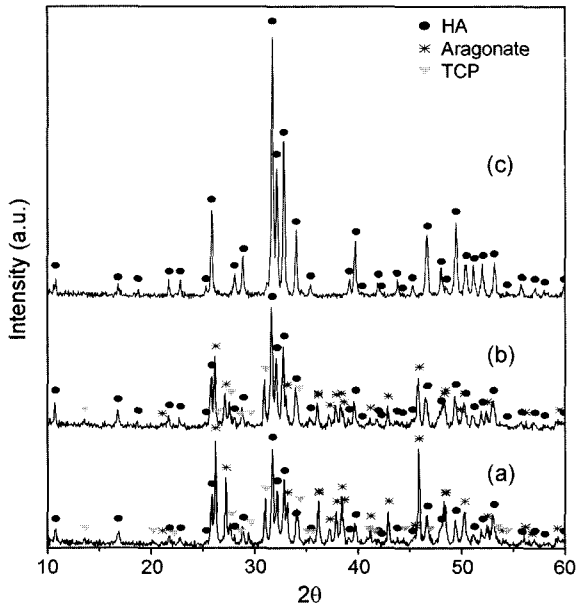


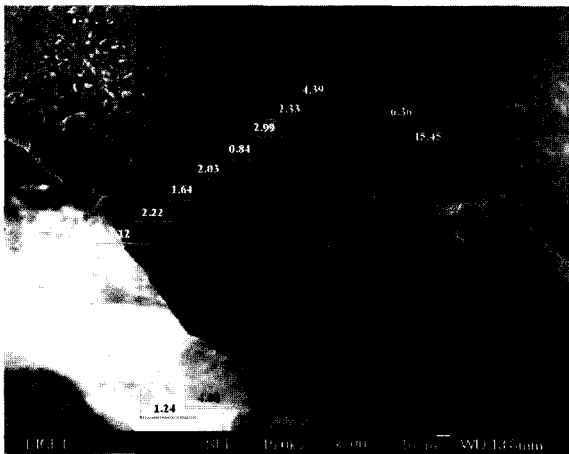
Fig. 4. XRD powder diffraction patterns of the samples after hydrothermal treatment in the presence (a) silicon acetate and (b) tetraethylorthosilicate.

지 않고 용액으로부터 쉽게 석출되어 산호의 전환반응에 참여하지 않기 때문이라 사료되었다.

실리콘이 이온으로 존재할 수 있는 유기용매인 아세톤을 사용하여 산호를 수열처리 하는 과정에서 실리콘을 골격 내에 치환시키는 실험을 하였다. 아세톤의 역할은 실리콘 아세테이트가 수열처리 과정에서 실리카로 석출되지 않고 용액상태로 존재하여 실리콘이 산호의 골격에 들어갈 수 있는 solvothermal 여건을 만들어 주기 위한 용매로서의 기능을 제공한다. Fig. 5(a)는 산호를 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 용액 내에서 180°C, 7시간 수열반응 시킨 결과이다. 시편

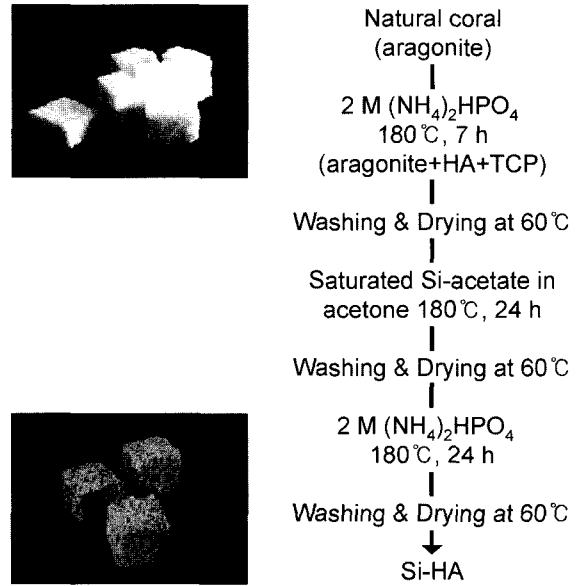


**Fig. 5.** X-ray powder diffraction patterns of the samples during the conversion process after (a) hydrothermal treatment in 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 180°C, 7 h, (b) solvothermal treatment in silicon acetate/acetone solution at 180°C, 24 h, and (c) hydrothermal treatment in 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 180°C, 24 h.



**Fig. 6.** EDS result of the Si substituted hydroxyapatite.

은 HA, TCP, CaCO<sub>3</sub>(aragonite)가 혼재되어 있는 상태였다. 주 피이크의 회절강도 차이로부터 출발물질인 aragonite가 주된 조성임을 확인할 수 있었다. Fig. 5(b)는 (a)의 시료를 다시 silicon acetate/acetone 포화용액에서 180°C, 24시간 반응시킨 것으로 (a)에 비해 aragonite의 피이크가 작아지고 수산화아파타이트의 피이크가 상대적으로 크게 나타났다. 여기서 FE-SEM을 통해 EDS 분석한 결과 Fig. 6에서 알 수 있듯이 골격구조의 모든 부분에서 1-5% 실리콘이 검출되었다. 실리콘 아세테이트를 아세톤에 포화시켜 solvothermal 처리할 경우 실리콘이 이온으로 존재하

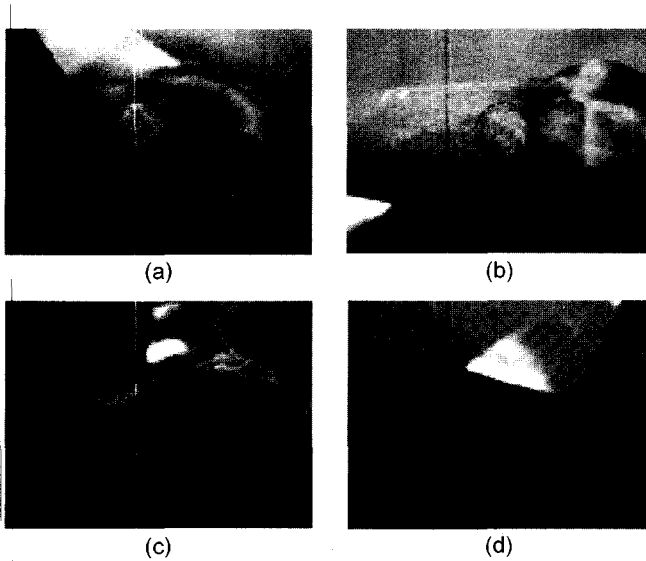


**Fig. 7.** Block diagram for synthesizing Si-substituted hydroxyapatite derived from coral.

여 수산화아파타이트 골격에 치환되어 들어갈 수 있는 새로운 방법임을 확인할 수 있었다. 한편 표면에서는 더욱 높은 실리콘 농도가 검출되었는데 그 이유는 표면에는 용액으로부터 석출된 실리카에 의하여 일부가 코팅되었음을 의미한다. Fig. 5(b)의 XRD에서 보듯이 아직은 시편은 HA, TCP, CaCO<sub>3</sub>(aragonite)의 혼성물로 존재하였다. 이 시편을 2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 용액내에서 180°C, 24시간 다시 수열반응시켜 실리콘이 함유된 순수한 수산화아파타이트 다공체를 제조할 수 있었다. Fig. 5(c)에서 확인할 수 있듯이 반응 후, XRD로 관찰해 본 결과 출발물질인 CaCO<sub>3</sub> 또는 TCP 등의 불순물은 존재하지 않았고 순수한 실리콘을 함유하는 수산화아파타이트상을 얻을 수 있었다. Fig. 7에는 hydrothermal, solvothermal 반응을 이용하여 실리콘이 치환된 수산화아파타이트 제조공정을 나타냈다.

### 3.3. 실리콘 치환 수산화아파타이트 다공체의 *In vivo* Test

산호를 출발물질로 한 수산화아파타이트와 실리콘이 첨가된 수산화아파타이트 시편을 토끼의 대퇴골에 이식하여 생체 친화성 여부를 확인하였다. 실험에 사용한 토끼는 New Zealand White Rabbit으로 2.5 kg 이상의 3~4개월령 수컷이며 다공체 시편은 5 mm 직경, 8 mm 길이의 원통형으로 하였다. Fig. 8은 산호로부터 제조한 수산화아파타이트와 실리콘이 치환된 수산화아파타이트 다공체 시편을 implant한 후 3주 및 6주 경과한 시편 부위를 근접 촬영한 것이다. 수산화아파타이트 다공체 시편인 경우는 6주가 경과한 후에도 변화가 나타나고 있지 않으며 시료의 형태를 그대로 유지하고 있는 것으로 관찰되었다. 그러나 실리콘이 치환된 수산화아파타이트 다공체 시편



**Fig. 8.** The observation of the porous bone block samples after implant into femoral bone of New Zealand White Rabbit (a) HA block, 3 weeks, (b) Si-HA block, 3 weeks, (c) HA block, 6 weeks, and (d) Si-HA block, 6 weeks.

인 경우에는 6주 경과 후, 시료의 형태는 유지되고 있으나 주변의 bone marrow가 시편 부위에 채워진 것으로 사료되며 기존 뼈와의 경계가 흐려진 것으로부터 실리콘이 첨가된 수산화아파타이트의 생체 친화성이 보다 우수한 것으로 사료되었다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 사람의 해면골과 매우 유사한 기공구조를 갖는 천연 산호를 수열처리하여 수산화아파타이트 다공체를 제조하였다. 산호의 주성분은  $\text{CaCO}_3$ 이며 XRD 검사결과 aragonite phase를 갖고 있었다. 생체친화성을 증진시키기 위하여 산호를 수열 처리하는 과정에서 실리콘을 치환시키는 연구를 수행하였다. 수열합성과 실리콘 아세테이트가 포화된 아세톤 용액에서 solvothermal 처리를 반복하여 실리콘이 함유된 수산화아파타이트 다공체를 제조할 수 있었다. XRD로 관찰해 본 결과 출발물질인  $\text{CaCO}_3$  또는 TCP 등의 불순물이 존재하지 않았고 순수한 수산화아파타이트상이었다. In vivo test 결과 실리콘이 치환된 수산화아파타이트는 6주 경과 후 시편의 형태는 유지되고 있지만 주변의 bone marrow가 시편 내부에 채워진 것으로 나타났다. 이상의 결과로부터 천연 산호를 출발물질로 하여 제조한 실리콘이 첨가된 수산화아파타이트 다공체는 우수한 생체 친화성을 보여주며 새로운 골대체재료의 응용이 기대된다.

#### 감사의 글

이 논문은 2003년 산업자원부의 차세대 산업기술개발(생체 hybrid 재료 및 응용기술 개발) 사업에 의하여 지원되었으며, 이에 감사드립니다.

#### REFERENCES

1. L. L. Hench, "Bioceramics," *J. Am. Ceram. Soc.*, **81** [7] 1705-27 (1998).
2. E. Bouyer, F. Gitzhofer, and M. I. Boulos, "Morphological Study of Hydroxyapatite Nanocrystal Suspension," *J. Mater. Sci.: Mater. in Med.*, **11** 523-31 (2000).
3. W. Weng and J. L. Baptista, "A New Synthesis of Hydroxyapatite," *J. Eur. Ceram. Soc.*, **17** 1151-56 (1997).
4. I. R. Gibson, S. M. Best, and W. Bonfield, "Chemical Characterization of Silicon-Substituted Hydroxyapatite," *J. Biomed. Mater. Res.*, **44** [4] 422-28 (1999).
5. C. M. Serre, M. Papillard, P. Chavassieux, J. C. Voegel, and G. Boivin, "Influence of Magnesium Substituted on a Collagen-Apatite Biomaterial on the Production of a Calcifying Matrix by Human Osteoblasts," *J. Biomed. Mater. Res.*, **42** [4] 626-33 (1998).
6. S. M. Best, W. Bonfield, I. R. Gibson, and L. J. Jha, "Silicon-Substituted Apatites and Process for the Preparation Thereof," WO 98-08773.
7. T. Kokubo, S. B. Cho, K. Nakanishi, C. Ohtsuki, T. Kitsugi, T. Yamamuro, and T. Nakamura, "Dependence of Bone Like Hydroxy-Apatite Formation on Structure of Silica Gel," *Bioceramics*, **7** 49-54 (1994).
8. S. Hayakawa, K. Tsuru, C. Ohtsuki, and A. Osaka, "Mechanism of Apatite Formation on a Sodium Glass in a Simulated Body Fluid," *J. Am. Ceram. Soc.*, **8** 2155-60 (1999).
9. E. M. Carlisle, "Silicon: A Possible Factor in Bone Calcification," *Science*, **167** 279-80 (1970).
10. D. M. Roy, "Porous Biomaterials and Method of Making Same," US Patent 3,929,971 (1975).
11. E. W. White, "Calcium Phosphate Bone Substitute Materials," US Patent 4,861,733 (1989).
12. E. W. White and E. C. Shors, "Coated Materials and Methods for Making Same," US Patent 4,976,736 (1990).
13. D. Shi and G. Jiang, "Synthesis of Hydroxyapatite Films on Porous  $\text{Al}_2\text{O}_3$  Substrate for Hard Tissue Prosthetics," *Mater. Sci. and Eng.*, **C6** 175-82 (1998).
14. X. Miao, Y. Hu, J. Liu, and A. P. Wong, "Porous Calcium Phosphate Ceramics Prepared by Coating Polyurethane Foams with Calcium Phosphate Cements," *Mater. Lett.*, **58** 397-402 (2004).
15. Y. H. Koh, H. W. Kim, H. E. Kim, and J. W. Halloran, "Fabrication of Macrochannelled-Hydroxyapatite Bioceramics by a Coextrusion Process," *J. Am. Ceram. Soc.*, **85** [10] 2578-80 (2002).